



patent selected (of matches).

Search

Table of Contents

1. JP03007785 A C09D 19910114 TOSHIBA CORP

METAL PARTICLE DISPERSING RESIN COATING MATERIAL AND COATING METHOD USING SAME MATERIAL

Record 1



[no drawing]

JP03007785 A**METAL PARTICLE DISPERSING RESIN COATING MATERIAL AND COATING METHOD USING SAME MATERIAL
TOSHIBA CORP****Inventor(s):**SAITO MASAHIRO ;ITO YOSHIYASU**Application No.** 01142180 JP01142180 JP, **Filed** 19890606,

Abstract: PURPOSE: To obtain the title coating material containing an epoxy resin and fine powder of Al, etc., having high adhesion strength between a metal substrate and metal fused coating film and having excellent corrosion resistance, abrasion resistance and heat resistance.

CONSTITUTION: The aimed coating material obtained by blending and dispersing (B) one or more kind of metals or ceramic fine powder (having ≤ 5.5 specific gravity and preferably about 20-100 μ granule size) selected from Al, Al₂O₃, stabilized ZrO₂, BN, TiO₂, Cr₂O₃ and Y₂O₃ into (A) an epoxy resin (having 1.15-1.20 specific gravity), preferably at an amount of about 10-15vol.%.

COPYRIGHT: (C)1991,JPO&Japio

Int'l Class: C09D16300; B05D00714 B05D00724

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許番号

特許第3007785号
(P3007785)

(45) 発行日 平成12年2月7日(2000.2.7)

(24) 登録日 平成11年11月26日(1999.11.26)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I
A 6 1 K 38/00		A 6 1 K 37/02
A 6 1 P 7/00		31/00 6 0 7
A 6 1 K 47/16		47/16
C 0 7 K 1/00		C 0 7 K 1/00
14/47		14/47

請求項の数 9 (全 5 頁)

(21) 出願番号	特願平6-43837	(73) 特許権者	000000033 旭化成工業株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号
(22) 出願日	平成6年3月15日(1994.3.15)	(72) 発明者	油井 雅樹 宮崎県延岡市旭町6丁目4100番地 旭化 成工業株式会社内
(65) 公開番号	特開平6-321805	(72) 発明者	鶴ヶ谷 守行 宮崎県延岡市旭町6丁目4100番地 旭化 成工業株式会社内
(43) 公開日	平成6年11月22日(1994.11.22)	(74) 代理人	100075281 弁理士 小林 和憲
審査請求日	平成8年7月18日(1996.7.18)	審査官	大宅 郁治
(31) 優先権主張番号	特願平5-55642	(56) 参考文献	特開 昭64-6219 (J P, A)
(32) 優先日	平成5年3月16日(1993.3.16)		
(33) 優先権主張国	日本 (J P)		
前置審査			

(54) 【発明の名称】 トロンボモジュリン組成物およびその変性防止方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】 トロンボモジュリンを含み、アルギニン、グルタミン酸、プロリン、セリン、グリシンおよびその塩類よりなる群から選ばれた一種または二種以上のアミノ酸またはその塩類を少なくとも含有することを特徴とするトロンボモジュリン組成物。

【請求項2】 アミノ酸またはその塩類が、アルギニンまたはその塩類である請求項1に記載のトロンボモジュリン組成物。

【請求項3】 アミノ酸またはその塩類が、トロンボモジュリン1mgあたり0.01~1mmolの添加量である請求項1又は2に記載のトロンボモジュリン組成物。

【請求項4】 組成物が、凍結乾燥組成物である請求項1~3のいずれかに記載のトロンボモジュリン組成物。

【請求項5】 トロンボモジュリンが、可溶性のトロンボモジュリンである請求項1~4のいずれかに記載のトロンボモジュリン組成物。

【請求項6】 トロンボモジュリンを含み、アルギニン、グルタミン酸、プロリン、セリン、グリシンおよびその塩類からなる群から選ばれた一種または二種以上のアミノ酸またはその塩を少なくとも含有することを特徴とする凍結乾燥工程でのトロンボモジュリンの変性防止方法。

【請求項7】 アミノ酸またはその塩類が、アルギニンまたはその塩類である請求項6に記載のトロンボモジュリンの変性防止方法。

【請求項8】 アミノ酸およびその塩類が、トロンボモジュリン1mgあたり0.01~1mmolの添加量である請求項6又は7に記載のトロンボモジュリンの変性

防止方法。

【請求項9】 トロンボモジュリンが、可溶性のトロンボモジュリンである請求項6～8のいずれかに記載のトロンボモジュリンの変性防止方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、トロンボモジュリン、およびアミノ酸またはその塩類からなる群から選ばれた一種または二種以上を含有することを特徴とするトロンボモジュリン組成物および該組成物の凍結乾燥工程でのトロンボモジュリンの変性防止方法に関する。

【0002】

【従来の技術】現在、血栓溶解剤として用いられているものには、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼや組織プラスミノゲンアクチベーターがある。また、抗血液凝固剤としてはヘパリンやワーファリンが用いられている。さらに、血小板凝集抑制剤としてはアスピリン、スルフィンピラゾン、ジピリダモール等が使われている。

【0003】これらの血栓溶解剤、抗血液凝固剤および血小板凝集抑制剤は、それぞれ別個に、あるいは併用して、たとえば、心筋梗塞、血栓症、塞栓症、末梢血管閉塞症、閉塞性動脈硬化症、血管内血液凝固症候群(DIC)、狭心症、一過性脳虚血発作、妊娠中毒症等の疾患の治療および予防に用いられている。しかしながら、これらの血栓溶解剤、抗血液凝固剤および血小板凝集抑制剤は非常に複雑な機構から成り立つ血液の凝固線溶系のごく一部に作用するにすぎない。そこで、血液の凝固線溶系に広く作用し、優れた血液凝固抑制作用を示す薬剤が求められていた。

【0004】ところで、トロンボモジュリン(以下TMと略称する)はトロンビンによるプロテインC活性化を促進する作用を有する。プロテインCは血液凝固線溶系において重要な役割を演じているビタミンK依存性の蛋白質であり、トロンビンの作用により活性化される。活性型プロテインCは、生体内で血液凝固因子の活性型第V因子、および活性型第VIII因子を失活させ、また血栓溶解作用を有するプラスミノゲンアクチベーターの産生に関与していることが知られている[鈴木宏治、医学のあゆみ、第125巻、901頁(1983年)]。

【0005】TMは、このトロンビンによるプロテインCの活性化を促進して抗血液凝固作用と血栓溶解作用を示す活性型プロテインCを大量に産生せしめるものである。従って、TMは生体における抗血液凝固および血栓溶解に大きく寄与するものである。前記のように、TMは抗血液凝固作用と血小板凝集抑制作用および血栓溶解作用を有するのでたとえば、心筋梗塞、血栓症、塞栓症、末梢血管閉塞症、閉塞性動脈硬化症、血管内血液凝固症候群(DIC)、狭心症、一過性脳虚血発作、妊娠中毒症の患者の治療および予防に用いられることが期待

される。

【0006】TMは、細胞からの産生量が少ないので、工業的規模での生産は行われていなかった。しかし、遺伝子組み換え体の利用(山本ら、特開昭64-6219号公報)でTMを容易に得ることが可能となり、その医薬品としての開発が行われるようになった。

【0007】TMを抗血液凝固剤あるいは血栓溶解剤として広く安定的に供給するためには凍結乾燥を行って製剤化することは必須の操作である。ところが、本発明者らはTM含有溶液を凍結乾燥すると、微量ではあるが一部が変性によって高分子化し、TM分子がいくつか会合した多量体が生成することを明らかにした。蛋白質の凍結乾燥では水分が一部水和層まで脱水され、部分的に環境が極端に非水化されることによって、蛋白質の構造保持機構が破壊され、変性が起こるものと考えられる。TMは医薬品として開発されているものであるため、変性物を含んでいる場合には、その抗原性を含めた安全性が問題となる。このような実状では、その抗血液凝固作用や血栓溶解作用にもかかわらず、治療薬として安全なTM組成物を提供することは不可能である。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】前記のように、変性物を含むTM組成物は人体に投与することは好ましくなく、治療薬として用いる場合は変性物を含まないTM組成物が望ましい。このため、TMの凍結乾燥工程での変性による高分子化を防止し、安全で安定なTM組成物および該組成物を得る方法が要求される。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明者らは前記の問題点を解決するために鋭意研究を行った結果、アミノ酸またはその塩類より選択される一種または二種以上を添加することで、凍結乾燥工程でのTMの変性を防止しうることを見出し、良好なTM凍結乾燥組成物が得られ、本発明を完成した。

【0010】本発明は、上記の知見に基づいて完成されたもので、トロンボモジュリンを含み、アルギニン、グルタミン酸、プロリン、セリン、グリセリンおよびその塩類よりなる群から選ばれた一種または二種以上のアミノ酸またはその塩類を少なくとも含有することを特徴とするトロンボモジュリン組成物、およびトロンボモジュリンを含み、アルギニン、グルタミン酸、プロリン、セリン、グリシンおよびその塩類からなる群から選ばれた一種または二種以上のアミノ酸またはその塩類を少なくとも含有することを特徴とする凍結乾燥工程でのトロンボモジュリンの変性防止方法である。

【0011】本発明でトロンボモジュリンとは、トロンビンによるプロテインC活性化を促進する作用を有する物質として定義され、特に好ましくは可溶性のトロンボモジュリンが挙げられる。

【0012】まず本発明に用いられるTM原料は公知の

方法、またはそれに準じて調製すればよいが、そのようなものとして、例えば、前記山本らの方法（特開昭64-6219号、実施例参照）が挙げられる。すなわち、ヒト由来のTM遺伝子を遺伝子操作技術により調製し、必要に応じた改変を行って組み込んだチャイニーズハムスター卵巣細胞を培養し、培養液から高純度に生成されたもので、細胞質ドメインを含まない可溶型TM、例えば光散乱法にて分子量62,000の可溶TMが挙げられる。なお、本発明に用いられるTM原料は、適宜の糖鎖を有していてもよい。

【0013】また本発明に用いられるTM原料の生産方法は、これらに限定されるものではない。すなわち、TMを生産するような組織またはこれら組織培養液から抽出精製するような原料生産方法も採用できる。一般にはさらに抽出精製工程を経ることにより、適宜等張化剤、緩衝化剤（リン酸ナトリウムなど）といった塩類を含むTM含有溶液として調製すればよい。

【0014】また本発明における凍結乾燥工程でのトロンプモジュリンの変性を防止する添加物としては、アミノ酸およびその塩類からなる群から選ばれた一種または二種以上の有効量が用いられる。このアミノ酸またはその塩類としては、例えばアルギニン、グルタミン酸、プロリン、セリン、グリシンおよびその塩類よりなる群から選ばれた一種または二種以上が挙げられ、好ましくはアルギニンまたはその酸付加塩、グルタミン酸またはその塩基付加塩または遊離型としてのプロリン、セリン、グリシンなどが挙げられる。

【0015】上記の添加物において最も好ましくは、アルギニンまたはその酸付加塩、グルタミン酸またはその塩基付加塩、プロリン、セリンである。アルギニン酸付加塩の場合、付加し得る酸としては製剤学的に許容されたものであれば特に制限はなく、たとえば、塩酸、クエン酸、硫酸など、ならびにそれらと機能上同等の物質を挙げることができる。同様に、グルタミン酸塩基付加塩の場合は、付加し得る塩基としては製剤学的に許容されるものであれば特に制限はなく、たとえば、ナトリウム、カリウムなど、ならびにそれらと機能上同等の物質を挙げることができる。

【0016】上記添加物を含む本発明の組成物においては、上記添加物の他に第3成分として、糖類や等張化剤、緩衝化剤などを添加してもよく、特にこれらの影響を受けるものではないが、等張化剤や緩衝化剤に用いられる塩類、特に塩化ナトリウムの濃度が高いことは本発明を用いて凍結乾燥を行う際、ケーキの形成に害を及ぼすこともある。またケーキ形成補助剤あるいはTMの容器への吸着を防止する目的で、適宜アルブミン、ゼラチン等を添加してもよい。また、糖類としては、例えば単糖類または二糖類が好適であり、特に好ましくはマンニトール、トレハロース、ラクトースまたはスクロースであ

る。

【0017】本発明で用いる添加物の添加量は、通常TM1mgあたり0.01~1mmolが例示される。すなわち、添加量が0.01mmol以上となれば本発明の好ましい変性防止効果が認められるようになり、また、1mmolを越えて添加しても、変性防止効果を大きく増大させるものではなく、経済的な面において選択することができる。

【0018】添加方法は特に限定されないが、たとえば、添加物を直接TM含有溶液に添加する方法、またはあらかじめ添加物を水、注射用蒸留水あるいは適当な緩衝液に溶解して添加する方法などが挙げられる。添加時期は凍結乾燥前であれば分離精製過程であっても、製剤化工程であってもよい。

【0019】また、例えば製剤化工程においては、アンブルまたはバイアルに、水、注射用、蒸留水あるいは適当な緩衝液1mlあたり0.05~15mg、好適には0.1~5mgのTMおよび上記添加物を含有する溶液を、例えば0.5~10ml充填し、次いで常法により凍結乾燥して注射用製剤として調整できる。このような注射用製剤としては、例えば1日1~3回投与として0.01~100mg含有した凍結乾燥製剤として得ればよい。

【0020】

【発明の実施の形態】以下、実施例及び比較例により本発明を具体的に説明するが、本発明は何らこれらによって限定されるものではない。実施例1注射用蒸留水2mlあたり1mgのTM（ヒト由来のTM遺伝子を遺伝子操作技術により、調製改変して組み込んだチャイニーズハムスター卵巣細胞を培養して得られた、糖鎖を有する光散乱法にて分子量約62,000の可溶型TM；特開昭64-6219号）を含む溶液を調製した。このTM溶液にグルタミン酸ナトリウム0.05mmolを添加した。さらに、該溶液を2mlずつガラスバイアル瓶に分注し、凍結乾燥を行った。凍結乾燥は-40℃で18時間予備凍結し、-40~+20℃、真空度0.05~0.01mmHgで40時間一次乾燥し、ついで20℃、真空度0.05~0.01mmHgで6時間二次乾燥した。

【0021】次いで、この凍結乾燥品を再溶解後、サイズ排除クロマトグラフィー分析を行い高分子化したTMの割合を求めた。分析には、内径7.5mm、長さ60cmのステンレス管に排除限界分子量50万の親水性シリカゲルを充填したカラムを使用し、0.1M硫酸ナトリウムを含む50mMリン酸ナトリウム緩衝液（pH7.0）を溶離液として、波長210nmで検出した。結果は表1に示した。

【0022】

【表1】

実施例	添加物種類	添加量 (mmol)	変性物割合 (%)
実施例 1	グルタミン酸ナトリウム	0.05	0.10
実施例 2	プロリン	0.05	0
実施例 3	セリン	0.05	0.22
実施例 4	グリシン	0.05	0.48
実施例 5	アルギニン塩酸塩	0.01	0.51
実施例 6	アルギニン塩酸塩	0.02	0
実施例 7	アルギニン塩酸塩	0.05	0
実施例 8	アルギニン塩酸塩	0.1	0
実施例 9	アルギニン塩酸塩	0.2	0
実施例 10	アルギニン塩酸塩	0.5	0

【0023】実施例 2

添加物をプロリンとした以外は前記の実施例 1 と同様に行った。結果は表 1 に示した。

【0024】実施例 3

添加物をセリンとした以外は前記の実施例 1 と同様に行った。結果は表 1 に示した。

【0025】実施例 4

添加物をグリシンとした以外は前記の実施例 1 と同様に行った。結果は表 1 に示した。

【0026】実施例 5～10

添加物をアルギニン塩酸塩とし、添加量を 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5mmol とした以外は実施例 1 と同様に行った。結果は表 1 に示した。

【0027】実施例 11

添加物として、アルギニン塩酸塩およびスクロースの二種を併用し、その添加量をそれぞれ 0.05mmol とした以外は前記の実施例 1 と同様に行った。

【0028】実施例 12

添加物として、アルギニン塩酸塩 0.05mmol および精製ゼラチン 10mg とした以外は前記の実施例 1 と同様に行った。

【0029】比較例 1

添加物を加えなかったこと以外は前記の実施例 1 と同様に行った。結果は表 2 に示した。

【0030】

【表 2】

比較例	添加物種類	添加量 (mmol)	変性割合 (%)
比較例 1	添加物なし	0	1.17
比較例 2	塩化ナトリウム	0.01	1.35
比較例 3	塩化ナトリウム	0.02	1.46
比較例 4	塩化ナトリウム	0.05	1.93
比較例 5	塩化ナトリウム	0.1	2.07

【0031】比較例 2～5

添加物を塩化ナトリウムとし、添加量を 0.01、0.02、0.05、0.1mmol とした以外は前記の実施例 1 と同様に行った。結果は表 2 に示した。

【0032】

【発明の効果】前記の実施例および比較例の結果から明らかなように、本発明によれば、TM の凍結乾燥工程で

の変性による高分子化を防止し、変性物を含まない TM 組成物を得ることが可能となる。これによって、凝固線溶系に広く作用し、優れた血液凝固抑制作用を有する TM を安全な治療薬として供給することが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】アルギニン塩酸塩の各種添加量に対する TM の変性物割合の関係を示す図である。

【図 1】

